

DELPHION

RESEARCH

PRODUCTS

INSIDE DELPHION

Log Out

Work Files

Saved Searches

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

The Delphion Integrated View: INPADOC RecordGet Now: PDF | File History | Other choices

Tools: Add to Work File: Create new Work

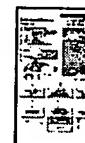
View: Jump to: Top

Go to: Derwent

Email

Title: **GB2209757B: ALTERED ANTIBODIES**Derwent Title: Modified IgG class antibody - having at least one aminoacid residue in the constant portion altered to alter an effector function [\[Derwent Record\]](#)

Country: GB United Kingdom

Kind: B (See also: [GB2209757A](#))Inventor: GREGORY PAUL * WINTER; 64 CAVENDISH AVENUE, CAMBRIDGE
ALEXANDER ROBERT * DUNCAN; 5 HARVEY ROAD, CAMBRIDGE
DENNIS RAYMOND * BURTON; 41 CARSICK HILL ROAD, SHEFFIELD S10Assignee: * MEDICAL RESEARCH COUNCIL, 20 PARK CRESCENT, LONDON W1N
4AL, United Kingdom
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Published / Filed: 1990-10-24 / 1988-11-01

Application Number: GB1988008825480

IPC Code: IPC-7: [A61K 39/395](#); [C12N 15/13](#);

ECLA Code: None

National Class: C3H0HB7M0000000000HB7MC3H0H6750000000000HB7MU1S0S2419

Priority Number: 1987-12-01 [GB1987008728042](#)INPADOC Legal Status: None [Get Now: Family Legal Status Report](#)

Designated Country: AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE AU EP GB JP US DE FR GB IT EP JP US

Family:

PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	WO8807089A1	1988-09-22	1988-03-18	ALTERED ANTIBODIES
<input checked="" type="checkbox"/>	WO8807054A1	1988-09-22	1988-03-18	COMPLEMENT-BINDING PEPTIDE
<input checked="" type="checkbox"/>	US5648260	1997-07-15	1995-06-07	DNA encoding antibodies with altered eff. functions
<input checked="" type="checkbox"/>	US5624821	1997-04-29	1995-06-07	Antibodies with altered effector functions
<input checked="" type="checkbox"/>	JP03101690B2	2000-10-23	1988-03-18	
	JP01502875T2	1989-10-05		
	GB8825480A0	1989-01-05		
<input checked="" type="checkbox"/>	GB8825480A	1989-01-05	1988-11-01	ALTERED ANTIBODIES
	GB8728042A0	1988-01-06		

<input checked="" type="checkbox"/>	GB8728042A	1988-01-06	1987-12-01	ANTIBODY WITH ALTERED AFFINITY
	GB8718897A0	1987-09-16		
	GB8706425A0	1987-04-23		
<input checked="" type="checkbox"/>	GB2209757B	1990-10-24	1988-11-01	ALTERED ANTIBODIES
	GB2209757A1	1989-05-24		
<input checked="" type="checkbox"/>	GB2209757A	1989-05-24	1988-11-01	ALTERED ANTIBODIES
<input checked="" type="checkbox"/>	EP0351410A1	1990-01-24	1988-03-18	COMPLEMENT-BINDING PEPTIDE
<input checked="" type="checkbox"/>	EP0307434B2	1998-07-29	1988-03-18	ALTERED ANTIBODIES
<input checked="" type="checkbox"/>	EP0307434B1	1993-09-08	1988-03-18	ALTERED ANTIBODIES
<input checked="" type="checkbox"/>	EP0307434A1	1989-03-22	1988-03-18	ALTERED ANTIBODIES
<input checked="" type="checkbox"/>	DE3883899T3	1999-04-22	1988-03-18	GEAENDERTE ANTIKOERPER.
<input checked="" type="checkbox"/>	DE3883899T2	1994-03-31	1988-03-18	GEAENDERTE ANTIKOERPER.
	DE3883899C0	1993-10-14	1988-03-18	GEAENDERTE ANTIKOERPER.
<input checked="" type="checkbox"/>	AU1480388A1	1988-10-10	1988-03-18	ALTERED ANTIBODIES
<input checked="" type="checkbox"/>	AU0600575B2	1990-08-16	1988-03-18	ALTERED ANTIBODIES
<input checked="" type="checkbox"/>	AT0094171E	1993-09-15	1988-03-18	GEAENDERTE ANTIKOERPER.

25 family members shown above

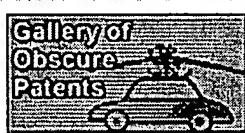
Forward
References:

[Go to Result Set: Forward references \(1\)](#)

PDF	Patent	Pub.Date	Inventor	Assignee	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	US7053202	2006-05-30	O'Keefe; Theresa L.	Millennium Pharmaceuticals, Inc.	Immunoglobulin DNA c molecules, monobody c methods of production, methods of use therefor

Other Abstract
Info:

CHEMABS 110(23)207251T CHEMABS 111(17)151930Q [DERABS C88-285516 DER/285543](#)



Nominate this for the Gallery...



THOMSON

Copyright © 1997-2006 The Tho

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)

④日本国特許庁(JP)

①特許出願

④公表特許公報(A)

平1-5

④公表 平成1年(1989)

④Int.CI.	識別記号	序内整理番号	審査請求 未請求	予備審査請求 未請求	部門(区分)
C 12 P 21/00	C-6712-4B				
A 61 K 39/395	V-8829-4C				
C 07 K 15/08	8318-4H*				(

④発明の名称 変性抗体の、または変性抗体に関する改良

④特 願 昭63-502461

④公出 発 昭63(1988)3月18日

④翻訳文提出日 昭63(1988)11月

④国際出願 PCT/GB88/002

④国際公開番号 WO88/07089

④国際公開日 昭63(1988)9月

④優先権主張 ④1987年3月18日イギリス(GB)④8706425

④発明者 ウィンター、グレゴリー・ポー イギリス、ケンブリッジ カバンデツシユ・アベニユ、6
ル

④発明者 ダンカン、アレクサンダー・ロ イギリス、ケンブリッジ ハービイ・ヒード、5
パート

④出願人 メディカル・リサーチ・カウン イギリス、ダブリュ・1・エヌ 4・エイ・エル、ロン
シル ク・クレストン、20

④代理人 弁理士 原見 久郎 外2名

④指定国 AT(広域特許), AU, BE(広域特許), CH(広域特許), DE(広域特許), FR(広域特許), GB
特許), IT(広域特許), JP, LU(広域特許), NL(広域特許), SE(広域特許), US

最終頁に續く

請求の範囲

1. 基本285がG10により選択された請求項6の抗体

1. 基本部分(本明細書で定義する)中の少なくとも1つの
アミノ酸残基が、非変成抗体と比較して抗体のニフュクター
構造を変性する異なる残基により置換されたクラスI & Gの
変成抗体。

2. 抗体がエフェクター分子に対する親和性を非変成抗体と
比較して変性した請求項1の抗体。

3. 抗体が正常抗体、やメラ抗体または変性抗体である請求
項1の抗体。

4. 非変成抗体と比較してアセレセプターに対して変性した
結合親和性を備えた変性Pc領域を有するクラスI & Gの変
成抗体。

4. 非変成抗体と比較してアセレセプターに対して変性した
結合親和性を備えた変性Pc領域を有するクラスI & Gの変
成抗体。

5. 非変成抗体と比較してアセガンヤス1レセプターに対し
て変性した結合親和性を備えた変性Pc領域を有するクラスI & Gの変成抗体。

6. 基本318、320および322の少なくとも1
C14結合親和性を有するA14に選えた請求項10
の抗体。

7. 基本318、320および322の少なくとも1
C14結合親和性を有するA14に選えた請求項10
の抗体。

8. 基本318がY1に変わった請求項10の抗体。

9. 基本382がG1に変わった請求項10の抗体。

体を有する請求項15の抗体。

16. 装置297がA12により置換された請求項15の抗体。

17. げっ歎酸またはヒトIgGからなる請求項1の抗体。

18. 定常部分(余川端を記載する)の少なくとも1つのアミノ酸残基を異なる残基で置換し、抗原のエフェクター機能を非変換抗体に比較して優越することからなるエフェクター分子に対するクラスIgGの抗体のエフェクター活性を活性化する方法。

19. (a) H鎖またはし組の定常部の少なくとも一部をコード化し、かつ少なくとも1つのアミノ酸残基が変換抗体中の対応する残基と異なるDNA配列に作動可能に適合した複数のプロモーターを含む第一の複製可能な表現ベクターを誕生し；

(b) 必要により、相補的Ig鎖またはH鎖をコード化するDNA配列に作動可能に適合した適当なプロモーターを含む第二の複製可能な表現ベクターを誕生し；

(c) 第一または双方の誕生ベクターを有する細胞系を培養し；

(d) 前記お實験した細胞系を培養して変換抗体を誕生す

る。

工具からなる野鶴抗体に比較して優越したエフェクター機能を備えたクラスIgGの変換抗体を誕生する方法

明細書

変換抗体の、または変換抗体に関する改良

発明の分野

本発明は変換抗体に関し、変換したエフェクター機能を有する抗体、該抗体を産出する方法、および抗体のエフェクター機能を活性化する方法に関する。

発明の背景

抗体、即ち免疫グロブリンは、ジスルフィド結合により連結された二つのH(heavy)鎖と、二つのL(light)鎖からなり、各鎖は各々のH鎖にジスルフィド結合により結合している。IgGクラス(すなわち、ガンマ(G)クラスの免疫グロブリン(Ig))の抗体の一般構造を図付の第1図に模式的に示す。

各H鎖は一端に一つの可変領域を有し、これに接する定常領域が異なる。各L鎖は一端に一つの可変領域を、他端に一つの定常領域を有し、L鎖の可変領域はH鎖の可変領域と連結し、L鎖の定常領域はH鎖の最初の定常領域と連結する。

さて伸びるH鎖の部分により構成されたPc領域に抗体は、エフェクター分子の結合を媒介としてエフェクター活性を有する。例えば、補体のC1成分の抗原結合は補体システムを活性化する。補体の活性化ニン作用および細胞溶解作用において重要である補体の活性化は炎症反応を制御し、自己免疫の過度引き起こしうる。さらに、抗体は、抗体Pc領域上セプター部位を細胞上のPcレセプター(FcR)でPc領域を介して細胞に結合する。IgG(ガンター)、IgE(イーグレセプター)、IgA(アセプター)およびIgM(ミュー-レセプター)を含むクラスの抗体に対して特有の幾つかのPcレセプターする。細胞表面上のPcレセプターに対する抗体の抗体致死粒子の作用(cytotoxicity)および致死、の活性化、キラー細胞による抗体致死した標的細胞の細胞溶解性細胞障壁(ADCC)と称される)、炎症、などの放出、脱酸トランシスファーおよび免疫グロブulinの細胞生物学的性質が半胱氨酸の反応

提供され、ここで少なくとも一つの正常のアミノ酸残基(本明細書にて定義)は異なる位置により置換され、抗体のエフェクター機能を未変成の元体に比較して活性する。

抗体のエフェクター機能は変性、すなわち、Fcレセプターまたは補体成分のようないエフェクター分子に対する抗体の親和性の強化または減少により実現してよい。結合親和性は一般的にエフェクター分子の結合部位を変成することにより度わり、この場合では、親和の部位の位置を変換し適当な方法で該部位の少なくとも一部を変成するのが好ましい。また、エフェクター分子に対する抗体上の結合部位における変性は、企て的な結合親和性の度合いを実質的に高めとしないが、技術的な相互作用を表す。エフェクターの選択を並行的結合によって強制なものとすることがあることも考えられる。さらに、またエフェクター機能は、エフェクター分子結合に直接関連せず、エフェクター機能の実行に関連する部位を変成することにより度えてらまとい考えられる。

抗体のエフェクター機能を備えることにより、免疫反応の様々な段階を制御すること、例えば、免疫系の様々な反応を強化または抑制することが可能となり、診断および治療において有益な効用が得られる。

例えば、細胞および末梢のガンなどのような難つかの充実性腫瘍を有する患者の悪性疾患の指導性治療(guided localisation)をはかるためにモノクローナル抗体を用いることが知られている。しかしながら、これらの一般的の用途は、

免疫性、免疫性並びに非特異的活性のようないいくつかの異なる基盤が広がっているため、開発されている。人体への内投与は、その目標となる細胞に到達する放射性ヨウ素(131I)を用いた腫瘍結合(tumor associated)モノクローナル抗体が少くである(Epsteinら、1986年)。これらの研究における一つの問題として、正常なリンパ節における高い非特異性吸収、およびネズミモノクローナル抗体の速やかな代謝が挙げられる。ヒトモノクローナル抗体の長月は、リンパ管、肝臓および脾臓の高親和性レセプター(FcギンマR1)に対する非特異的結合のため高い背景レベル(バックグラウンド)を示すことがある。この高親和性レセプターに結合しないモノクローナル抗体は、抗体の特異的な腫瘍への取り込みを増大し、一方FcRへの非特異的結合により背景レベルを下げるにより抗体誤導(guided)治療の局在化を改善する。腫瘍の治療に用いられるモノクローナル抗体は、一般的には放射性の標識がなされるが、ホスト自身のニフェーの機序の利用が行われる。革縫合線、特にK細胞によるDCCは最も効果的と思われる(Heilら、1985年)が、抗原した際的細胞にとって生体内でこれらのいずれが最もであるかは未だ明らかでない。ある形式のFcレセプターに反応する抗体を産生することは可能である。例えば、E.Sの細胞の高親和性FcギンマR1を結合しない抗体は産生されると、表面に親和したときFcギンマR1を細胞を結合し、ADCやおよび細胞細胞の特異的接着

3. 製造:

変性抗体の產生は、新規者に専らの技術を含むいかなる適切な技術によって行なってよい。例えば、C₂領域などの抗体の開拓した正常構造の形成部または全部など、抗体の適当なタンパク質配列は、適当な変性残基を含んで合成することができ、ついで抗体分子の適当な場所に化学的に結合することができる。

しかしながら、遺伝子工学の技術を変性抗体の产生に用いるのが好ましい。従来好ましいかかるこのような技術はつづきのものからなる。

1) 適当な残基が変性された1gG H鎖の1gGのV_H、C₁、C₂領域など、1gG H鎖またはH鎖の少なくとも一部をコード化するDNA配列に操作可能に結合した適当なプロモーターを含む第一の複型可能な表現ベクター(expressible vector)を产生すること。

2) 必要により、相補的1gG L鎖またはH鎖をコード化するDNA配列に操作可能に結合する適当なプロモーターを含む第二の複型可能な表現ベクターを产生すること。

クターを用いて形質転換された細胞系、プレパラティブ(preparative)ベクターを用いて形質転換された細胞系、およびそれらを产生する方法を包含する。

好ましくは形質転換されたエフェクター機能抗体を产生する細胞系は、不死化した癌細胞の細胞系でこれはミエローマ、ハイブリドーマ、トリオーマまたはドコーマ細胞系のごときリンパ系癌細胞という利点を有すが、胚細胞系はエプステイン・バールサイルスのごときウイルスを用いた形質転換により不死化されたB細胞など新たなリンパ細胞からなってよい。最も好ましくは癌不死化細胞系はミエローマ細胞系またはその派生体である。

変性したエフェクター機能の抗体を產生するのに用いる細胞系は癌細胞の細胞系であるのが好ましいが、細胞系または胚細胞の細胞系のごとき他のいかなる適当な細胞がわりに用いてよい。特に、E.coli 誘導細胞を用ることも考えられる。

正常状態にあるとる種のミエローマ細胞系のごとき不活性化細胞系は、分裂した1gG L鎖を分泌すること

培養的細胞を分離しない場合、ステップ(3)を実行する必要がある。このステップはステップ(2)において発生されたベクターをさらに操作することにより行なうでもよく、その結果このベクターは核酸だけでなくし質もコード化する。別途としては、不死化した細胞系を形質転換するには用いられる第二ベクターを產生することによりステップ(2)を実行する。

かかるベクターを產生し、不死化した細胞系の形質転換に用いられる技術は、当業者に公知であり本発明を構成するものではない。

不死化した細胞系が複数的細胞を分離する場合において、形質転換された細胞系は例えばベクターを用いて過当な細胞の細胞を形質転換し、ついで該細胞の細胞を不死化した細胞系を用いてマクロファグをコード化する。別途としてマウスの細胞を用いてマクロファグをコード化するDNA配列は、オリゴマクレオチド合成により產生してよい。別途として度性したタンパク質をコード化するDNAをプライマー一定方向オリゴマクレオチド部位一定方向突然変異誘発により产生してもよい。この技術は本質的に度性を含有するDNAの一本鎖を用いて所要の差異に対応してコードするオリゴマクレオチドのハイブリッドを形成すること、および度異を含む鎖を產生するオリゴマクレオチドの延長のために典型的として一本

抗体の調達度性タンパク質をコード化するDNA配列は、オリゴマクレオチド合成により产生してよい。別途として度性したタンパク質をコード化するDNAをプライマー一定方向オリゴマクレオチド部位一定方向突然変異誘発により产生してもよい。この技術は本質的に度性を含有するDNAの一本鎖を用いて所要の差異に対応してコードするオリゴマクレオチドのハイブリッドを形成すること、および度異を含む鎖を产生するオリゴマクレオチドの延長のために典型的として一本

鎖を用いることを含む。この技術は、様々な面で異なる [Colleran ら (1982年)、Zeller ら (1984年)、Norris ら (1983年)、Kraemer ら (1982年)]。最も特徴的な点はこの技術は、様々な理由から高い頻度で異常を生じない。M13に基づくベクター単一および複合配列の両方を説明する改良技術がC985とよばれ [1985] により報告されている。

本発明は、異なる種、例えばヒト、マウス (マウス、ハムスター) など、および他の種 (clace) の抗することができる。本発明はまた自然発生抗体、片 (例えば PCT/JP 93/006/60822 にて開示の別式の) 他の方法 (GB 2168638 にて開示の別式の) にて度性抗体に用いることができる。

一例として、IgGについてヒトガンマ球とレセプターに対する結合親和性を変える研究がなされた。ヒトおよびマウスにおいて、多様のPcGタンパク質は粗分離にPcGタンマウス、PcGタンマウス、ヒトガンマRと呼ばれ、これらは全く異なって表現度が高め (Oncogenetic cell type) を重複する (およびし Coney, 1988年)。さらに、これらを見出するIgGサブクラスに対して異なる親和性の細胞のごとく、細胞表面のこれらレセプターへの結合は細胞の度異かつ多様な生物学的反応を引き起こすなどのレセプターがどの対象に対して立に反応する

は知られていないが、これら生物学的な作用に対して開拓する技術とレセプターであることが反応の形跡から推定される。ヒトおよびマウス中のレセプターは多くの生物学的基盤に基づき而族として構成されている。而族由来の低親和性PcGタンマウスのクローニングおよび配列決定 (sequencing) は、この技術 (Sherrill, 1986年) を支持する。高親和性レセプターPcGタンマウスは癌細胞にわたり、かつヒトとマウスの両方の結合基質体IgG (ヒトIgG1およびIgG3、マウスIgG2a) について研究されており、同一の細胞型にて発見される。

IgGのPcG領域は、第1図に示すように二つの通常領域、C₂およびC₃からなる。マウスを用いて、相互作用に対する二つの領域、C₂ (PcG) およびC₃ (マウスの各々の領域の決定に多くの努力が払われた。分離されたC₂領域 (PcGフラグメント) は、酵母ロゼットの形成において組合作用を示さないことが報告されている (Abrahams ら, 1976年)。しかし他の報告では、このフラグメントはPcGタン

の能力は、高度C₂領域上の親和性決定基に向かって結合したPcGと相互作用を行うが、C₃上の反応に用かっていないものはC₂領域上の結合部位と (Partridge ら, 1983年)。

また、ヒト単球 (PcGタンマウス) 上のヒトIgG1の高親和性レセプターの広範な研究において、FolらはヒトIgG1のC₂領域に対する結合部位のを行なった (Wool ら, 1984年; Partridge ら, 1986年)。これらの研究から得られたIgGサブクラスの範囲は、ブリッジのフラグメントと並んで、直接結合生物学においてヒトIgGとヒト単球との間の相互作用を示すのにその能力がテストされた。IgGはヒト単球 (PcGタンマウス) に対して強い、中間のあるいは弱いを示すものに分類された。このような異なる親和性のアミノ酸配列の比較により、ヒンジ結合領域 (IgG-Ser280) の潜在的な单純結合部位が、IgG-Lys388により形成された二つのペプチド鎖の間で結合する。

38) $\text{Leu}-\text{Leu}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Pro}$ がマウスグリヤ235中の $\text{Leu}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Gly}-\text{Pro}$ に結合することを示す。

結合親和性を測定する試みにおいて、C1q 235のレセプターによる遮蔽がマウス IgG2b の同様中にて行われた。同様中の残基の番号は、Eリインデックスの番号である (Labatら、1983年参照)。正常マウス抗体はヒト IgG1 ガンマ R1 に結合しないが、残基 235 をグルタミン酸からロイシンに置換すれば方向変異が発現して変えることにより、ヒト IgG1 ガンマ R1 に対する親和性は 100 倍以上増大する。親和性の増加の大きさは予想以上に大きく、この領域における单一のアミノ酸の変更が、ヒトおよび他の動物の生体内における適用領域に対してより複合した抗体抗体の選択に用いられ得ることを示唆する。この変更は抗体表記 C1q などの他の Ig 領域部位を変性しない。

また、特定の残基をその領域上の不必要な側鎖を有する残基で置換することにより、あるいは C1q または Aop などの異なる抗体、あるいは Phe、Tyr または Trp などの芳香族非極性残基などを導入することにより IgG1 ガンマ R1 結合の親和性を変えることとも可能である。

これらの変更は、異なる免疫グロブリンの間の配列の相異性が得られたマウス、ヒトおよびゲット系に対し苦しく選用されると予想される。ヒト IgG1 ガンマ R1 レセプターを結合するヒト IgG3 において、Leu 235 を Gly に変性す

また、C1q の結合はイオン強度に依存し、イオン相互作用が関連することがわかった。

C_n3 領域を 1 g 分子の他の部分から切り取ることが可能であり、C_n3 領域の欠失によって C1q 結合活性はなくなることがわかった (Cojab より Porter、1975年)。

C_n2 領域を 1 g C から分離することも可能である。このような分離 C_n2 領域は分離した DC フラグメントと同様に C1q に対して同一の結合親和性を有することがわかった (Lichtenfeldら、1975年)。

このような結果から C1q に対する結合部位は 1 g の C_n2 領域に位置すると推測される。C1q 結合に寄与される C_n2 領域中の特異的アミノ酸残基を同定するために様々な試みがなされた。最初の試みでは、C_n2 領域の短い部分に対応する合成ペプチドが C1q 結合の阻止のために試された。これによって二つの可変な結合部位が同定された (Bookle ら、1975年および Lichtenfeld、1981年)。

第二の手法では、数種の 1 g C_n2 領域の配列の比較が、その三次元構造の研究と共に行われた。この結果、C1q 結合

ることは、レセプターに対する抗体の相互作用を説明すこのようにこのレセプターの結合部位はスイッチャオン、スイッチャオフが行われる。

ヒンジ連結領域 (例えば A1a による置換残基 234、235 または 237) の置換または接着部位における残基 C_n2 領域 234、235、236 および 237 における置換 IgG1 ガンマ R1 レセプターに対する親和性に少なくとも影響を与えることを示す。

したがって、本発明の他の領域では、示唆抗体と注文して IgG1 ガンマ R1 に対する親和結合親和性を有した抗体を置換するクテス 1 と G の抗体抗体が提供される。

このような抗体は、残基 234、235、236 および 237 に脂肪を有するのが優れがよい。

但し IgG1 レセプターに対する結合部位は異なる方法において免疫反応を抑制するなどの同様の方法で選択することがある。

さらに他の例として、抗体の C1 成分の結合による Ig の液化性を変性することも実験された。

抗体系、C1 の第一成分は実際には C1q、C1r および C1s として公知の多種類のタンパク質からなり、これに強く結合している。C1q は 8 種のタンパク質結合体の 1 の結合に対して結合力を有することがわかった。

分離された IgG フラグメントは C1q と Ig との相互作用を阻害することがわかった (Yaseen ら、1976年)。

H 領域の残基の番号は Eリインデックスの番号である (Labat ら、1983年参照)。

本発明者らは、以下に述べる特異的な C1q 結合部位において、S18 (G1a)、S20 (Lys) および S22 (Asp) のいずれか一つの残基を A1a に変えることにより C1q 結合をなくすことが可能であることを発見しました。

また、これらの残基において変異を起こせることにより、残基 S18 が水素結合側鎖を有し、かつ残基 S20、S22 の両者が正に荷電された側鎖を有するかぎり、C1q 結合が保持されることがわかった。

本出願人らは、これら三つの残基は 1 g への C1q 結合に直接関連するのであろうと信ずる。しかしながら、これら残基は C1q との物理的接觸には直接関係しない性もある。これら残基は一つの C_n2 領域が、1 g C 領域中の側鎖側鎖に対して接觸するのを助ける、この結果 C1q 結合にともに必要な少なくとも二つの 1 g 分子を変更この場合、C1q は全く異なる領域中の Ig と直連絡性にあってもよい。しかしながら、本出願人らはいずれ

抗原81B、320および322は、結合結合であるマウスおよびヒトIgG中に高率に結合されることに注目すべきである。

また、9つの特異の残基の変性はC1q結合活性を喪失するだけで、抗原結合活性、ブロテインA結合活性（ブロテインAはC12/Cn3インターフェースに結合する）または抗体のマウスマクロファージへの結合能力は喪失させないことがわかった。

本発明の方法は、9つの残基の残基のいずれか1つをその切断上の不適当な切断位を有する残基で置換することによりC1q結合活性をなくすことに用いることができる。本発明の方法は、9つの残基の残基のいずれか1つをその切断上の不適当な切断位を有する残基で置換することによりC1q結合活性をなくすことに用いることができる。また、C1q結合をなくすため、3つの残基のいずれか1つをアラニンまたはイソロイシン、アラニンまたはアスパラギンなどのアルキル置換非イオン性残基、あるいはアラニン、アラニン、アラニンおよびアラニンなどの芳香族非極性残基を用いることも可能である。また、C1q結合活性をなくすために残基320および322（31Bは除く）の代わりにSer、Thr、CysおよびMetのような極性非イオン性残基を用いることも可能である。

イオン性または非イオン性残基切断上の切断はC1q結合により形成される結合と同様の方法で水素結合を形成することができる。したがって、慢性的による31B（G1q）残基の置換が修正されてよいが、C1q結合活性をなくすこ

とはない。

さらにAトヨによる207（A5n）の置換はも併存し、一方C1qに対する親和性を保ただけ（約1/3に弱くなる）ことがわかった。これはヨコシル化部位を攻撃するためであり、かつ抗体分子に変化水素の存在が必要であると考えられる。こける他の変換いずれもグリコシル化部位を攻撃する。さらに、Ly320のG1qへ影響は、C1q結合を正常に比へ極かだけ弱くするが、これに良好なC1q結合が解消には不充分であり、Igの正常な配置が実現されることを示す。

これまでの全ての抗体インタイプは、マウスIgGに移植する場合、C1q結合喪失（nol）または結合に効果的な密接に関連した変換を有する。即ち、変性因子が既に存在するはずである。例えば、（a）および低セグメント柔軟筋を有する抗体インタイプ（O！ら、1981年）であり、（a）モチーフをIgの相互作用はPaboアームによるIgとの固定化のために立体的にブロッケされ得る（Lesliebarrow年）か、または（b）C1qと抗体との相互作用のために正確な配置が必要としこのためそれ自身区分異とすることが示唆される。

つぎに本発明を添付の図面を参照し実施例により第1図はIgGの構造を示す。

第2図は発達したPcガンマ段階結合構造の抗体を示すために用いるクローンングステップの手順を示す。

第3図はマウスIgGガンマ2b遺伝子の配列を示す。

第4図はU937上の高親和性レセプターに対してマウスガンマ2b免疫グロブリンを用いて結合したIgGにて標識したプール（pooled）ヒトIgGの阻害を示すグラフである。

第5図はU937高親和性レセプターに結合したIgG-IgDシグナルのスキャッチャードプロットである。

第6図はヒトガンマ2b遺伝子のオクレオチド配列およびタンパク質配列を示す。

第7図は変異を有するマウスIgG2b抗体のCn2領域をコード化するオリゴヌクレオチド配列、および幾つかの実験抗体を構成するため用いられるオリゴヌクレオチドの配列を示す。

つぎにヒトPcガンマR1に対するその親和性を変換するマウスIgG2bに関する実験について述べる。

抗体の可変および定常領域エクソンをコード化するDNAは、Interveneを操作し、ランバ細胞系中に導入することが

な領域をコード化する。このベクターを用いて抗体はヒトPcガンマR1に結合しない。

pSV-VNP-2bベクターの構造の一節を示す。図2（b）図に示すごとく、双ベクターは、用いて部分的に消化され、Cn2およびCn3の両方のワグメントはプラスミドM18K19（Carter）にクローンされる。

Cn3領域のN末端のS2c1部位は、このDNaseI触配列を保持したオリゴヌクレオチドを用いたN末端変性酵素により除去された。

ついで、Cn2領域における点変異は、第3図には示すようにU937細胞および株株EL236にてえはにて合成オリゴヌクレオチドを用いて生ずる。変異の構造は以下に述べる。点変異の位置を第2図に示す。

変異Cn2-Cn3ワグメントはpSV-VNP-2bベクター中に再クローンされ、正常型Cn2-Cn3を示す。表現体pSV-VNP-2bベクターは、J

被度異体Eし295は、ヒトIgGの結合を抑制およびヒトIgG細胞への直接結合により検定される(Fordら、1984; 1986)。ヒトIgG細胞系、U937上の高親和性Fcレセプターへの既存の¹²⁵Iで標識した正常グールヒトIgGの効率は、定量的な放射生物学的検定システムにて測定され、ここで選択あるいは固相結合標準はホー素親和性オイカルを用いて既存分野により分類された。正常型ガンマ2bおよび被度異体Eし295の結合は、標識したヨリクコーナルヒトIgGの結合により比較される。第4図はこの実験の阻止曲線を示す。第4図において白丸は正常型を示し、黒丸は被度異体Eし295を示す。結果は阻害剤(inhibitor)の不存在下に¹²⁵I-IgGの結合分率=1となるよう標準化した。被度異体はヒトIgG1の結合を阻止し、正常型のテンパク質は阻止活性を示さなかった。被度異体をした被度異体Eし295のU937細胞への直接結合は、結合定数 $3.13 \times 10^{-3} M^{-1}$ を与える(第5図)。同様の実験のグールヒトIgGの値と非常に近似している。

第5図はU937高親和性Fcコンセプターに相当する¹²⁵I-EL235の典型的なスキットチャートプロットである。細胞のモル当たりの¹²⁵I-IgG結合のモル数、 r はつぎの関係式を用いて計算した。

$$r = \frac{6 \times 10^{-3} \times I \times G}{\text{細胞の数/L}}$$

式中、 $I \times G$ は結合¹²⁵I-IgGの強度である。

Aは標識の¹²⁵I-IgGの強度をあらわす。プロの相關関数は0.95であった。

このように点滅異は、ヒトIgG1と¹²⁵I-IgG2bの結合親和性を100倍以上高性する。

実験はヒトガンマ3連合子内にて行われ(Duckら、1981)。抗原-H1フラグメントは、BammH1リンクカ付着した後、疎密にM13 リク11内にサブクローンた。ついで、合成オリゴヌクレオチドが前記のごとくそれ第6図に示すことく変異：

294レヒからA1a

295レヒからG1a

296G1yからA1a

297G1yからA1a

を形成した。

BammH1フラグメントは、B18抗体の可変領域を下化するBammH1-BammH1フラグメントに付着し(Krebsbergら、1984および1985に記載)。pSVgベクター中に発現するようクローンされる。

PcガンマR1における結合の粗目抗体の性質は、図に関連して述べたように競合後応式(competition assay)にて隔離的に検定した。第1表は¹²⁵Iで標識したグールヒトIgGの結合を阻止するに必要な抗体のU937細胞の強度を示す。

第1表

表(36)

正常型	10^{-3}
(Leu284, Leu285, Gly286, Gly287)	10^{-3}
被度異体	
A1-E236	4×10^{-3}
G1-E235	10^{-2} 細
A1-E236	3×10^{-3}
A1-E237	3×10^{-3}

上記の表は $I \times G$ (即ち、¹²⁵Iで標識したグールヒトIgGの結合分率が0.5における $I \times G$ の強度)の既報を示す。

これらの結果は前記のごとく、診断および治療においてマウスおよびヒトの両抗体の使用に関し興味ある意味を持つ。

この結果はPcガンマR1レセプターが選択的にスイッチャまたはオフされることを示し、これは人および他の動物の $in vivo$ の診断または治療に用いられる抗体の構造に大いに用い得ることを示す。

得られた結果抗体の表面的Pcアーケファリン認導ヒト血球(Waltslebenら、1984年)を標的とする能力は定量的生物学的検定法(Yoshidaら、1986年)により測定した。定結果を第2表に示す。 $\mu g/mL$ 抗体で被した力程に0分強き7℃における60%寄録に要する抗体の量をとす。

被度異体の値は、NP-351上での純NP抗体をかけた後、放射性標識C1qに付する吸光度で試験した(Leslie-BarrowらおよびUrci、1984年)。この結果も第2示す。

第2表

IgG	力価(ELISA/mf)	親和性 \times M
MolgG2b	9	10
MolgM	0.15	-
MolgG1	\times	-
MolgG2bの無関係な変異体		
Pro331-A1a	3	-
Pro331-G1y	-	12
Glu330-A1a	3	12
Thr335-A1a	3	10
Ser337-A1a	3	11
Glu283-A1a	3	-
His285-A1a	3	12
His290-A1a	3	11
Glu294-A1a	3	-
Glu295-A1a	3	-
Lys248-A1a	3	-
Ile253-A1a	3	9
Ser267-A1a	3	-
Asp270-Asp	3	-
Gln274-A1a	3	-
Lys317-A1a	3	-
Lys396-A1a	3	-
Lys460-A1a	3	-

親和性をなくすMolgG2bの変異体

Glu318-Y11	\times
Glu318-A1a	\times
Lys320-A1a	\times
Lys320-G1a	\times
Lys322-A1a	\times
Lys322-G1a	\times
Asn297-A1a	\times
親和性を保持するMolgG2bの変異体	
Glu318-Thr	3
Lys320-Arg	3
Lys322-Arg	3

ヒトIgG1およびマウスIgG1に付着する有する抗体は、各々ニム・ブルグマン博士(M. Brugmann)およびピート・ティ・ジョーンズ氏(P. T. Jones)より得た。

変異体Glu318-A1a、Lys320-Arg、Lys322-A1aは劇的に親和性が減少したしながら、これらはNPハザテンおよびプロラ結合を保持する(C_h2-C_h3インターフェイスで)ことから、C_{1a}結合の損失は抗体の構造変化面ではないことが示唆される。構造基團(G1a-Lys)または頭部の残基(Ile253-A1a)親和性を保持する。

参考文献

アブラムソン、エヌ・ゲルファン、イー・ダーナンドル、ジェイ・エイチ、およびローザン、エフ(Abrahamson, N., Gelfand, E.I., Jandl, J.H., et al.), 1970年, J. Exp. Med., 132巻, 1
アンダーソン、シー、エル、およびルーニー、アイ(Anderson, C.L., and Rooney, L.J.), 1981年, Immunol. Today, 7巻, 264頁
バーネット・ポスター、ディー、イー・、ダーケイ、ジェイ、エイチ、およびペインター、アール、エイザ(Barrett-Poster, D.E., Darrington, E.J., and R.D.), 1980年, J. Immunol., 124巻, 2
ボーグルム(Boogel et al.), 1975年, No 82巻, 742~763頁
ブルンハウゼンおよびセブテ(Brunhauzen and Sebte), 1979年, Molec. Immun., 16巻, 907~911
バートンら(Burton et al.), 1980年, Molec.

この結果から残基818、820および823により定義された表面パッチは、IgGがC_{1a}と相互に作用するか否かを決定することが示唆される。これらの残基はヒトおよびマウスIgGに高度に保存され、これら2箇所における側鎖の変性は、構造を妨害化しないか、または補体に対する強化された親和性を有するヒトC_{1a}領域の変異体を構造上有用に組み立てるために用い得ることがわかる。

この表面パッチがC_{1a}に対する完全な結合部位である証拠は、Glu \times Lys \times Lys \times Lysを含むポリペプチド模導品から判明し、該基部はモデル系中でのC_{1a}活性を阻止することがわかる。この研究は本出願と同日付にて提出の発明の名前「補体結合ペプチド」として現在保有中のリサーチ・カーポレーショングによるPCT出願第号に記載されている。

本発明は第に説明のために上記のごとく記載されたにすぎず、発明および変更は本発明の範囲を逸脱しない限り可能であることがわかる。

ーク, アール. , スティルンベルグ, エル. , ジュイ, イー. , オ
およびクエット, アール. , エイ. (Burton, D.B., Boyd, J.,
Brampton, A., Bastesbrook-Smith, S., Casenau, S.J., C
ostolas, J., Badea-Schaefer, T.R., van Sonnenburg, J., E.,
Sternberg, N.J.B., and Doct, B.H.), 1980年, *Nature*,
288卷, 338頁

カーター, ピー. , ベドール, エイチ. , オおよびウインタ
ー, ジー. (Carter, P., Bedouelle, H., and Tissier, G.),
1985年, *Nucleic Acids Res.*, 13卷, 4451~446
48頁

カーター, ピー. , ベドール, エイチ. , ジュイ, エム.
ワイ, オおよびウインター, ジー. (Carter, P., Bedouelle,
H., Mayo, Y.T., and Rinter, G.), 1985年, Inc
Oligonucleotide-site-directed mutagenesis in M13.
English Biotechnology Limited, Colchester, England.

コロンおよびポーラー (Colom and Porter), 1975
年, *Biochen J.*, 245卷, 177~389頁

ダンカン エイ, アール. (Duncan, A.R.), University
of Cambridge Ph.D. Thesis (to be published).

エベレスト, エイ. , スナック, ディー. , ダーバン, エ
イチ. , ジョンソン, ピー. , オおよびティーラーパパディミトロ
ー, ジュイ. (Eponorow, A., Snook, D., Durbin, B., Joh
nson, P., and Taylor-Papadimitriou, J.), 1986年,
Cancer Res., 46卷, 8188頁

ヘイル, ザー. , クラーク, エム. , オおよびウォルドマン
エイチ. (Hale, E., Clark, M., and Waldmann, H.), 1
985年, *Journal*, 113卷, 3056頁

ヘイル, ザー. , オおよびウォルドマン, エイチ. (Hale,
and Waldmann, H.), 1985年, In *Biotechnology in the Biosciences and Medicine*, T. Springer, ed.
etc Press, New York.

フーバー, エイチ. , オおよびフーデンベルグ, エイチ. エ
チ. (Heber, H., and Fudenberg, H.H.), 1968年, *J
Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 3卷, 18頁

ハックル (Huck et al.), 1985年, *Nat. Med.*, 1卷,
14卷, 1779~1788頁

アイゼンマンら (Leaman et al.), 1975年, *J. Im
munol.*, 114卷, 1726~1729頁

ケイバット (Kabat et al.), 1980年, "Sequence
of Proteins of Immunological Interest", US Dept. H
and Human Services.

キヤロフスキー, エイチ. , ピー. , オおよびエベネイト, エイ
(Balonofsky, E.P., and Ebenezer, E.), 1986年, *Canc
Treatment Res.*, 126, 249頁

クレイター G (Cranner et al.), 1982年, *Nat.
Medicine Res.*, 10卷, 6475~6485頁

レザーバロウおよびチャック (Leatherbarrow and Chuck)
1984年, *Value Immun.*, 21卷, 321~327頁

レザーバロウ, アール. , ジュイ. , レイドマイラー, タイ
ー, グリューベ, ディック, アール. , エイ. , ウォーフ, ジニ
イ. , エム. , クラーク, エイ. , パートン, ディー. , アール. ,
リチャードソン, エタ. , オおよびファンスタン, エイ.
(Leatherbarrow, R.J., Bedenacker, T.W., Gook, R.B.,
Hoof, J.W., Clark, B., Burton, D.B., Richardson, K., a
nd Reinholts, A.), 1985年, *Nature*, 312卷,
407~416頁

ルイス, ブイ. , エイ. , コック, ディー. , ブラトナー,
エイチ. , オおよびメールマン, アイ. (Lewis, V.L., Koch, T.,
Plotner, D., and Mellman, I.), 1986年, *Nature*,
324卷, 322頁

ルーカスら (Lucas et al.), 1981年, *J. Immun.*,
122卷, 2555~2560頁

ムーリガン, アール. , シー. , オおよびバーグ, ピー.
(Mulligan, R.C., and Berg, P.), 1981年, *Proc.
Nati. Acad. Sci. USA*, 78卷, 2073頁

ニューラーベー, エム. , エス. , オおよびウィリアムス, ジー.
(Newell, M.C., and Berg, P.), 1981年, *Proc.
Nati. Acad. Sci. USA*, 78卷, 2073頁

イチ. (Seubering, B.S., Sillitoe, G.T., Mitchell, E.I.
Jouhal, S.S., Flanagan, J.C., and Robbins, T.U.), 1
986年, *Nature*, 314卷, 268頁

ニードバーバー, エム. , エス. , ウィリアムス, ジー.
一. , オおよびフックス, アール. , ザー. , (Neiderbar, M.S.
William, G.T., and Fox, R.O.), 1984年, *Nature*,
312卷, 504~508頁

ノリスら (Morris et al.), 1983年, *Nat. Medids
Res.*, 11卷, 5109~5112頁

オイ, ブイ. , ディー. , ミンボング, ディー. , ハーデ
アール, アール. , レイドラー, ジュイ. , ダンブル, ジ
イ. , エル. , ハーゼンベルグ, エル. , エイ. , オおよびストラ
(Qi, Y.T., Minh-Vuong, T., Harder, R.H., Reidler, J.,
Dang, J.L., Berzenborg, L.H., and Stryer), 1984年
Nature, 307卷, 136~140頁

パートリッジ, エル. , ジュイ. , ウーフ, ジュイ. , エス
ジュフェリー, アール. , オおよびパートン, ディー. , アール
(Partridge, L.J., Boof, J.H., Jefferis, R., and Burz

(Borch, J.P., Buzier, A.O., Feinshenk, R., Kochan, A., Pavlova, O.I., Portnoy, J., Pulley, J., Pan, Y.H., C., Pabelloos, J.), 1986年, Science, 234卷, 7

18頁

セラグス, エス, ブイ, ハイローズ, ティー, ミヤケ, ティー, カワシマ, イー, ユイチ, ジャンソン, エム, ジニイ, イタクラ, ケイ, オヨビウオーレイス, アール, ビー, (Sugis, S.P., Hirose, T., Johnson, T., Beerschot, E.H., Johnson, B.J., Shabot, K., and Wallace, R.B.), 1981年, In: *Developmental Biology using Purified Genes* (D. Brown, ed.) Academic Press, New York.

ウェルサンら (Wellman et al.), 1984年, *Science*, 234卷, 801頁

ワーフ, ジュイ, エム, ジュラード, エム, アイ, ヴィンセント, アーヴ, オヨビパートン, ティー, アール,

(Woo, J.H., Jefco, M.J., Jeffries, R., and Burton, D.R.), 1984年, *Nature*, 312卷, 623頁

ワーフ, ジュイ, エム, パートリッジ, エル, ジュイ, ジュラード, アーヴ, オヨビパートン, ティー, アール, (Woo, J.H., Partridge, L.J., Jeffries, R., and Burton, D.R.), 1984年, *Nature*, 312卷, 623頁

ヤスマーンら (Yasaman et al.), 1978年, *J. Immunol.*, 118卷, 518-522頁

ヤングら (Young et al.), 1986年, *Anal. Biochem.*

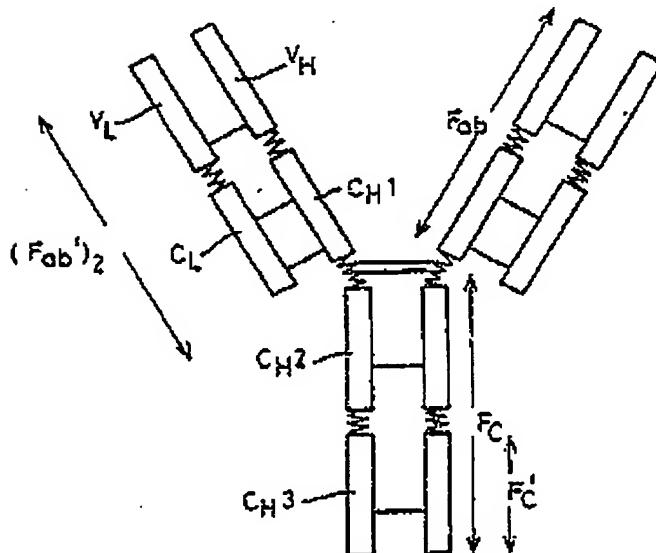
134卷, 669-676頁

ゾーラーおよびスミス (Zoller and Smith), 1982:

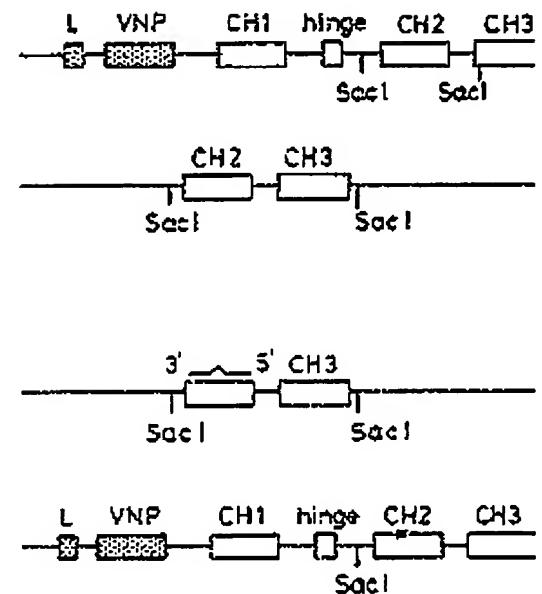
Vec. Acids Res., 10卷, 6487-6500頁

ゾーラーおよびスミス (Zoller and Smith), 1984:

DNA, 9卷, 497-488頁



領域
領域間部
...
...
...



發表平1-502875

AGATGCCAGATTAAGCTCAAGTGCGAAGCTCGACGGGAAATTTCGTCATGCTTCTGAGATCTTTTGAGAGAAGGTTCTAAAGAGAAAGCTAAGACAGAATCTC
10 30 50 70 90 110

GUAGTGAGGATTCACCGGNTTCGGGCUUAGCTTATTACCGCTT?CEAAACAGGCCAGGCRCGCAACCTACCAAGAGGEGGCTCTTAAUAGGAGGAGTCCTGTC
490 500 510 520 530 540 550 560 570 580 590

hinge

	Z	P	S	G	F	E	S	T	I	N	P	C	P	P	C	S	E	C	H
635	C	C	C	T	G	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
640	G	C	T	G	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
645	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
650	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
655	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
660	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
665	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
670	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
675	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
680	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
685	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
690	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
695	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
700	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
705	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
710	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
715	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
720	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
725	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
730	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
735	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
740	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
745	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
750	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
755	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
760	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
765	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
770	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
775	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
780	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
785	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
790	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
795	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
800	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
805	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
810	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
815	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
820	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
825	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T
830	T	T	T	T	T	T	T	T	T	A	A	A	C	T	T	T	T	T	T

N S G X E F K C X V N N K D L P S F I E R S T S S R N I K
 CAGTCGTCGGCGGCTTCAGTCAGGTCAGCANCACGATCTCCATGCGCATCAGGACATCAGGAAATTAAAGGTCGGACCGTGAGACAGCTCGATCGGCGCTGG
 3210 3220 1230 1240 1250 1260 1270 1280 1290 1300 1310

L K K T I S R S D G x . Sac1
 AACCTGAAAGAGCCGCTTGTGTTGCTGGGTAAATGATGCGGCGGAAAGGCTCTAGGGTGGCTGAGACACTGAGACCCATATCCGATCCGCTGTATAAAATAAGCAT
 2690 2700 1710 2720 1730 2740 1750 1760 1770 2780 1790

1910 1920 1930 1940 1950 1960 1970 1980 1990 1900 1910

ପାତ୍ରକାଳୀନ
୧୯୩୧

Fig. 3B

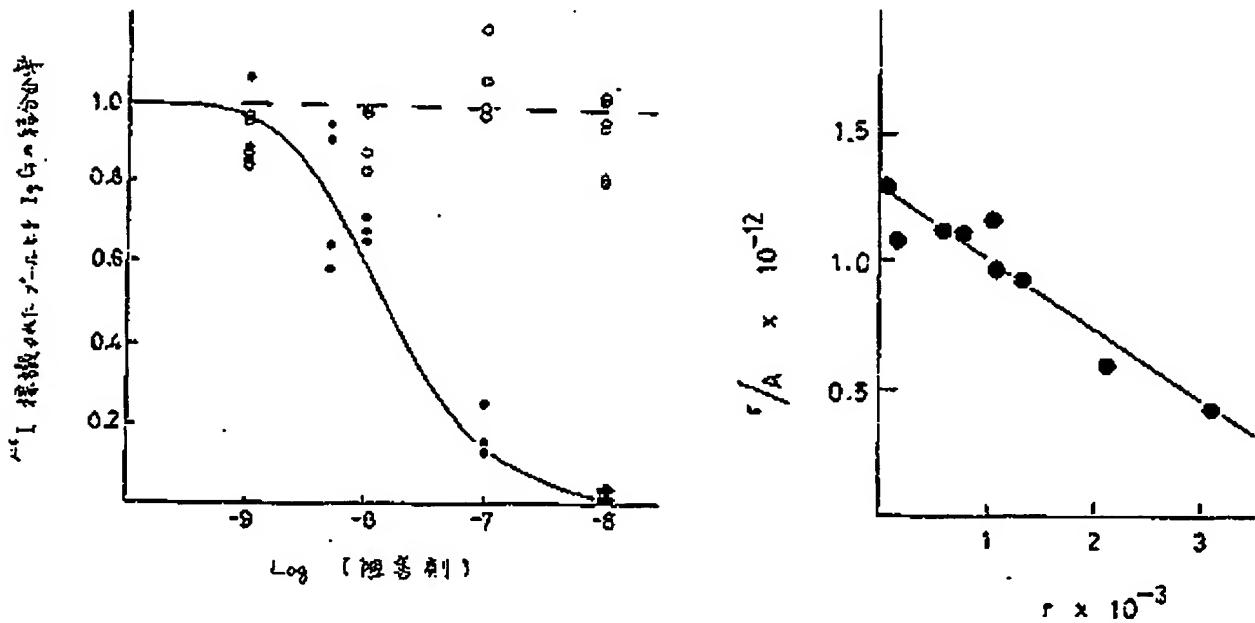


Fig. 4

Fig. 6

特美平1-50281

૨૬૬

S E K V U C V U U D U S K D D P D V
 T C E C C T G A C A C C A G G D T C A C T D T O T C G T G G C A T O T G A D C G G A T G A C C C A G C A C D
 G C A T T C T C T S' 11-252-81a

Q I S U F V N K U E V H I R O T Q T K R
TCCGATCTAGCTCTGTTGTCACACGCTGGPAGTACACGCTCTAGAATCAGAACCTTA

297

EDYHSTIRUUSLTLEIQXADH
GCAAGCTTGTACAGACTATATCCCGTGTTCACCCCTCCCGATCCACCCACCGTGTCT
ATCTCTATCCGGTCTTGT 9' 86297-A14

318 320 322

12

Digitized by srujanika@gmail.com

223

360CTT 5' 614-333-910

Fig. 7

Digitized by srujanika@gmail.com PCT/IN 2008/00252

DOCUMENTS CORRESPONDING TO THIS REPORT		DATE	TYPE	FORMAT	SIZE
SEARCHED	SERIALIZED	INDEXED	FILED	SEARCHED	SERIALIZED

特表事1

第1頁の続き

④Int. Cl. 4

C 07 K 15/12
C 12 N 15/00

識別記号

序内整理番号

8318-4H

A-8717-4B

優先権主張

④1987年8月10日④イギリス(C B)④8718897

④1987年12月1日④イギリス(C B)④8728042

④発明者

バートン, デニス・レイモンド イギリス、エス・10、シェフィールド カーシック
ド、41